

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problems Mailbox.**

(19) JAPANESE PATENT OFFICE (JP)

(12) Official Gazette for Unexamined Patent Applications (A)

(11) Japanese Unexamined Patent Application
(Kokai) No. 9-25212

(43) Disclosure Date: 28 January 1997

(51) Int.Cl. ⁶	Ident. Symbols	Internal Office Nos.	FI	Technology Indication
A61 K	7/00		A61 K	7/00 K U X
	7/48			7/48
	35/78	ADA		35/78 ADA

Request for Examination: Not yet requested Number of Claims: 5 FD (Total of 9 pages) Continued on last page

(21) Application No.: 7-200468
(22) Application Date: 13 July 1995

(71) Applicant: 000001959
Shiseido Company, Ltd.
5-5 Ginza 7-chome, Chuo-ku, Tokyo-to

(72) Inventor: Yuzo Yoshida
c/o Research Laboratories
Shiseido Company, Ltd.
1050 Nippa-cho, Kohoku-ku, Yokohama-shi,
Kanagawa-ken

(72) Inventor: Naomi Tanaka
c/o Research Laboratories
Shiseido Company, Ltd.
1050 Nippa-cho, Kohoku-ku, Yokohama-shi,
Kanagawa-ken

(72) Inventor: Eiichiro Yagi
c/o Research Laboratories
Shiseido Company, Ltd.
1050 Nippa-cho, Kohoku-ku, Yokohama-shi,
Kanagawa-ken

(74) Agent: Chieko Tateno, Patent Attorney.

Continued on last page

(54) Title of the Invention: A Topical Skin Agent

(57) [Abstract]

[Objective] To provide a topical skin agent that has superior effectiveness in color lightening and beautifying and whitening the skin in conditions of pigment deposition after sunburn, blotches, freckles and melasma and that is effective in the improvement of various types of skin diseases, skin roughness and chapping.

[Structure] A topical skin agent in which an extract of plants of the genus *Alycia* of the family Apocynaceae such as pulowaras (scientific name: *Alycia reindwartii* Bl.) is compounded.

[Claims]

[Claim 1] A topical skin agent in which an extract of plants of the genus *Alycia* of the family Apocynaceae is compounded.

[Claim 2] A topical skin agent as described in Claim 1 in which the plant of the genus *Alycia* of the family Apocynaceae is pulowaras (scientific name: *Alycia reindwartii* Bl.).

[Claim 3] A topical skin agent as described in Claim 1 or 2 which is a beautifying and whitening agent.

[Claim 4] A topical skin agent as described in Claim 1 which is a protease inhibitor.

[Claim 5] A topical skin agent as described in any one of Claims 1 to 4 in which the compounding quantity of the extract of plants of the genus *Alycia* of the family Apocynaceae is 0.005 to 20.0 parts by weight.

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Field of Industrial Use] This invention relates to a topical skin agent in which an extract of a plant the genus *Alycia* of the family Apocynaceae is compounded, and, in greater detail, it relates to a topical skin agent that inhibits production of melanin, that is effective in the prevention and improvement of pigment deposition after sunburn and of blotches, freckles and melasma and that can be used for the improvement of contact dermatitis, psoriasis, pemphigus vulgaris and congenital pemphigus [NOTE: Japanese text may have an error here] in which changes in protease activity in the lesion are found and of other skin diseases such as dryness of the skin and chapping and as a hemostatic agent.

[0002]

[Prior art and problems the invention is intended to solve] There are a number of points about the mechanism of development of skin blotches and other conditions that are unclear. In general, it is thought that the pigment melanin is formed because of hormone abnormalities and stimulation by ultraviolet

rays from sunlight and that abnormal deposition of it in the skin occurs. The pigment melanin, which is the cause of coloration of the skin, is produced in melanin producing granules (melanosomes) in the melanocytes that lie between the epidermis and the dermis and the melanin that is produced diffuses to adjacent cells as a result of osmotic action. The biochemical reaction that occurs in the melanocytes is presumed to be as follows. Specifically, the process of production of melanin pigment is a process in which tyrosine, which is an essential amino acid, is converted to dopaquinone by the action of the enzyme tyrosinase and in which it is changed to black-colored melanin via red pigment and colorless pigment by enzymatic or nonenzymatic enzyme action. Consequently, inhibition of the action of tyrosinase, which is the first step of the reaction, is important in the inhibition of melanin production.

[0003] However, the compounds that inhibit the action of tyrosinase, except for hydroquinone, manifest their effects extremely slowly, for which reason their effectiveness in improvement of skin pigment deposition is insufficient. On the other hand, the effect of hydroquinone is manifested for a period of time. However, because sensitization occurs to it, its use is generally limited. Accordingly, in order to increase its safety, attempts have been made to convert it to a monoester of a higher fatty acid or to an alkyl monoether (Japanese Patent Application Early Disclosure No. 58-154507 [1983]). However, because esters are broken down by hydrolytic enzymes in the body, it is hard to say that they are safe. Further, ethers have not been found to be satisfactory in terms of safety.

[0004] In recent years, it is being ascertained that proteases are involved in the development of the morbid picture in various skin diseases. For example, in psoriasis, which is representative of keratotic diseases in which there are inflammatory abnormalities, high plasminogen activator (PA) activity is found in the affected epidermis. PA is a serine protease. Haustein reported that strong PA activity is present in particular in parakeratinized sites as psoriatic epidermis (Arch. Klin. Exp. Dermatol: 234, 1969). Fraki and Hopsu-Havu extracted PA activity from psoriatic scales using high concentration salt solutions (Arch. Dermatol. Res; 256, 1976). Further, It was ascertained in in vitro experimental systems that, in pemphigus vulgaris, PA, which is synthesized in large quantities in epidermal cells, converts plasminogen, which is present outside

cells, to plasmin, which digests intercellular binding substances, with the result that tissue fluid is retained between cells and that vesicles are formed in the epidermis (Morioka S. et al.: J. Invest. Dermatol ; 76, 1981). It is further thought that proteases play an important role in the process of the normal keratinization of the epidermis such as in the formation of the stratum corneum (Ogawa H., Yoshiike T.: Int. J. Dermatol : 23 (1984) and attempts are being made to use protease inhibitors for improving skin or as therapeutic agents for skin diseases.

[0005]

[Means for solving the problems] In the light of the circumstances described above, the inventors studied the effects of a wide range of substances in inhibiting melanin production as well as their protease inhibiting activity. As a result, they perfected this invention by discovering that extracts of plants of the genus *Alycia* of the family Apocynaceae have a melanin production inhibiting action and a protease inhibiting action. There have been no reports on the melanin production inhibiting action of plants of the genus *Alycia* of the family Apocynaceae and nothing whatsoever is known about their application in beautifying and whitening agents and as protease inhibitors. In addition, there are no instances of the compounding of extracts of plants of the genus *Alycia* of the family Apocynaceae in topical skin agents. The inventors perfected this invention on the basis of the information described above.

[0006] Specifically, this invention is a topical skin agent characterized in that an extract of plants of the genus *Alycia* of the family Apocynaceae is compounded in it.

[0007] We shall now present a detailed description of the structure of this invention. For example, Pulowaras (scientific name: *Alycia reindwartii* Bl.), is desirable as a plant of the genus *Alycia* of the family Apocynaceae that is used in this invention. It is a plant that grows in arid meadows and pastures in Indonesia. The extracts that are used in this invention are obtained by immersing the entire plant, including the leaves, bark and underground stems and fruit of the plant, in an extraction solvent and subjecting them to heating and reflux, after which the product is filtered and concentrated. Any extraction solvent may be used as long as it is a solvent that is ordinarily used in extraction. In particular, organic solvents including

alcohols such as methanol and ethanol and acetone and ethyl acetate can be used individually or in combination.

[0008] The quantity of extract of the plant of the genus *Alycia* of the family Apocynaceae compounded in this invention is 0.005 to 20.0 weight %, and, preferably, 0.01 to 10.0 weight %, as dry matter in the total quantity of topical agent. When it is less than 0.005 weight %, the effect of this invention is not sufficiently manifested. When it exceeds 20.0 weight %, it is difficult to prepare the agent. This is not desirable. Moreover, there is no further increase in effect as the amount compounded increases over 10.0 weight %.

[0009] The topical skin agent of this invention may be applied as a beautifying-whitening agent or as a protease inhibitor. The term protease in the expression protease inhibitor is a general term for enzymes that catalyze the hydrolysis of peptide bonds. These proteases are classified into peptidases and proteinases. The former are enzymes that sever specific peptide bonds from the outside of the amino group terminals and the carboxyl group terminals of peptide chains. The latter, the proteinases, are divided into four general groups, serine systems, cysteine systems, aspartic acid systems and metal systems, depending on the type of active enzyme group and specific inhibitors present in them. The protease inhibitors in this invention are characterized in that they exhibit inhibitory activity specifically against serine proteases.

[0010] In addition to the aforementioned, components that are ordinarily used in topical skin agents such as cosmetic drug products and medicinal drug products, for example, other beautifying-whitening agents, moisturizing agents, antioxidants, oleaginous components, ultraviolet ray absorbents, surfactants, thickeners, alcohols, powdered components, colorants, aqueous components, water and various types of skin nutrients can be compounded appropriately as required in the skin topical agent of this invention.

[0011] In addition, metal blocking agents such as disodium edetate, trisodium edetate, sodium citrate, sodium polyphosphate, sodium metaphosphate and gluconic acid, drug preparations of caffeine, tannin, verapamil, tranexamic acid and derivatives thereof, licorice extracts, grabrizine [phonetic*], hot water extract of fire thorn fruit, various raw drugs, tocopherol

*[Translator's Note: Transliterated phonetically from the Japanese. As such, the spelling may differ from other transliterations.]

acetate and glycyrrhizinic acid and derivatives or salts thereof, beautifying-whitening agents such as vitamin C, magnesium ascorbate phosphate, ascorbic acid glucoside, arbutin and kojic acid and saccharides such as glucose, fructose, mannose, sucrose and trehalose can be compounded appropriately.

[0012] The topical skin agent of this invention may be any type of preparation as long as it is one conventionally used for topical skin agents, including, for example, an ointment, a cream, an emulsion, a lotion, a pack or a bathing agent.

[0013] Next we shall describe this invention in greater detail by means of examples. However, this invention is not limited by them. The quantities compounded are weight %. Prior to presenting the examples, we shall describe ①the melanin inhibiting effect, the tyrosinase inhibiting effect and the beautifying-whitening effect of the plant extracts of this invention and ②the method of testing for the protease inhibiting effect and the results thereof.

[0014] ① Methods of testing for melanin inhibiting effect, tyrosinase inhibiting effect and beautifying-whitening effect and results thereof

1. Preparation of Test Materials

50 g of bark of pulowaras was immersed for 1 week at room temperature in ethanol, the extract solution was concentrated and 2.18 g of ethanol extract was obtained. This extract was dissolved in 1% DMSO, the solution was diluted to adjust its concentration and the following tests were performed using this solution.

[0015] 2. Cell Culture Method

Cultured cells of B16 melanoma of mouse origin were used. They were cultured in Eagle's MEM culture medium containing 10% FBS and theophylline (0.09 mg/ml) at 37°C in a CO₂ incubator (95% air, 5% carbon dioxide). After culturing for 24 hours, test material solution was added to give a final concentration (converted concentration for dry extract) of 10⁻² to 10⁻⁵ weight % and culturing was continued for an additional 3 days. Visual evaluations of the quantity of melanin production and determinations of tyrosinase inhibiting effect were made by the methods described below.

[0016] 3. Visual Determination of Melanin Quantity

A diffusion plate was placed on the cover of the well plate, the quantity of melanin inside the cells was observed with an invert microscope and a comparison was made with the case of a test material (reference) to which plant extract had not been added. Table 1 shows the results. As the reference example, the same test as described above was performed with *Lamium* sp. [dead nettle] (Labiatae, genus *Lamium*), which is known to have a melanin production inhibiting action. The results are also shown in Table 1. In the table, toxicity indicates cytotoxicity.

[0017] < Evaluation Criteria >

O: white (quantity of melanin)

Δ: somewhat white (quantity of melanin)

X: reference (quantity of melanin)

[0018] 4. Determination of Tyrosinase Activity

Before determination, the culture medium in the well was removed and washing was performed twice with 100μl of PBS. PBS containing 45μl of 1% Triton-X (brand name; surfactant manufactured by Rohm & Haas Company) was added to each well. The plate was agitated for 1 minute, with the cell membranes being thoroughly destroyed, absorbance at 475 nm was determined with a microplate reader and this value was taken as the absorbance at the time 0 minutes. Following that, 5μl of 10 mM L-Dopa solution was rapidly added, the sample was transferred to an incubator at 37°C and a reaction was carried out for 60 minutes. The plate was agitated for 1 minute and absorbance (475 nm) was determined at the time of 60 minutes. The amount of decrease in the difference in absorbance for the test material to which plant extract had been added relative to the difference in absorbance at 0 minutes and 60 minutes for the test material to which plant extract had not been added (control) was taken as the tyrosinase activity inhibition rate (%). The results are shown in Table 1. As the reference example, the same test as described above was performed for an ethanol extract of *Lamium* that had been found to have tyrosinase activity inhibiting action. These results are also shown in Table 1. In the table, toxicity indicates that cytotoxicity was found. The symbol - signifies that a significant difference at a level of significance of less than 5% was not found by comparison to the controls.

[0019]
[Table 1]

Test	Melanin production visual evaluation				Tyrosinase activity inhibition rate (%)			
	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	10 ⁻³	10 ⁻²	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	10 ⁻³	10 ⁻²
Pulowaras extract	x	x	x	o	-	75	75	70
Lamium extract	x	x	x	x	-	-	-	55

[0020] 5. Beautifying-whitening Effect Test

[Test Method] Skin on the inner side of the upper arm of 40 subjects who had been exposed to summer sunlight for 4 hours (two hours a day, two days) was the object of the test. Each test material was applied once in the morning and evening over a four week period from day 5 after the day of exposure to the sunlight. The panel was divided into groups of 8 subjects, to give 5 groups and the tests were conducted with the formulation indicated below.

(Alcohol Phase)

95% ethyl alcohol 55.0 weight %
 Polyoxyethylene (25 mol) hardened
 castor oil ether 2.0
 Antioxidant - preservative suitable quantity
 Fragrances suitable quantity
 Drug (shown in Table 2)

(Aqueous Phase)

Glycerol 5.0
 Sodium hexametaphosphate suitable quantity
 Ion exchange water Remainder

< Preparation Method > The aqueous phase and the alcohol phase were prepared separately, after which the two were mixed and solubilized.

[0021] Evaluation Method. The color lightening effect after use was evaluated on the basis of the following evaluation criteria.

< Evaluation Criteria >

⊙: Case in which marked effectiveness and effectiveness was exhibited in more than 80% of the test subjects

O: Case in which marked effectiveness and effectiveness was exhibited in 50% to 80% of the test subjects

Δ: Case in which marked effectiveness and effectiveness was exhibited in 30% to 50% of the test subjects

X: Case in which marked effectiveness and effectiveness was exhibited in less than 30% of the test subjects

[0022] Test materials comprised of the compounding compositions indicated in the test methods described above and the whitening-beautifying effects as presented in Table 2 were compared. The results are shown in Table 2.

[0023]
[Table 2]

Drug	Compounded Amount (weight %)	Effectiveness
Nothing added	-	X
Hydroquinone	1.0	Δ
Pulowaras extract	0.1	○
Pulowaras extract	1.0	○
Pulowaras extract	10.0	⊙

[0024] The pulowaras extracts in Table 2 were obtained by heating reduction of the bark of the plants in ethanol, after which the material was filtered, concentrated and dried.

[0025] As should be clear from Table 2, the effects after exposure to sunlight were found to be that addition of pulowaras extract prevented excessive deposition of melanin pigment and prevented development of black color.

[0026] ⊙ Results of Test Method for Tyrosinase Inhibition Effect

Inhibitory activity on plasmin and trypsin as two representative serine proteases was evaluated.

[0027] 1. Preparation of Test Materials

The bark of pulowaras was immersed for 1 week in ethanol at room temperature and the extraction solution was concentrated and dried. The solid matter was again dissolved in ethanol and a 1% solution was made.

[0028] 2. Determination of Plasmin Inhibiting Activity

The inhibition rate % was found by the fibrin plate method. Specifically, a fibrin plate was prepared following the method of Astrup et al. (Arch. Biochem. : 40, 346, 1952) and test materials prepared as described above were diluted with ethanol to 0.1% and 0.01% for use. The results are shown in Table 3.

[0029] Determination of Trypsin Inhibiting Activity

Inhibition rates were found following the method of Muramatu [NOTE: probably misprint for Muramatsu] et al. (J. Biochem.: 58, 214, 1965) using casein as the substrate. The test materials were similarly diluted to < 0.1% and 0.01% for use. The results are shown in Table 3. As reference examples, tests similar to that described above were performed on ethanol extracts of Kunyit (scientific name: Curcuma domestica) of the family Zingiberaceae and Lempuyang (scientific name: Zingiber aromaticum Mal.) of the family Zingiberaceae and mugwort, which are plants known to have been used for rough skin in the past. The results are also shown in Table 3.

[0030]
[Table 3]

	Inhibition Rate %	Concentration of Test Material Added	
		Plasmin	Trypsin
Pulowaras	0.1%	33.1	31.5
	0.01%	27.5	25.0
Kunyit	0.1%	3.0	0
	0.01%	0	0
Lempuyang	0.1%	0	0
	0.01%	0	0
Mugwort	0.1%	18.6	0
	0.01%	5.8	0

[0031]**Example 1, Cream****(Formulation)**

Stearic acid	5.0 weight %
Stearyl alcohol	4.0
Isopropyl myristate	18.0
Glycerol monostearic acid esters	3.0
Propylene glycol	10.0
Pulowaras methanol extract	0.01
Potassium hydroxide	0.2
Sodium hydrogensulfite	0.01
Preservative	suitable quantity
Fragrances	suitable quantity
Ion exchange water	remainder

(Preparation Method) Propylene glycol, pulowaras methanol extract and potassium hydroxide were added to and dissolved in ion exchange water and the solution was heated and maintained at 70°C (aqueous phase). The other constituents were mixed, fused by heating and maintained at 70°C (oleaginous phase). The oleaginous phase was gradually added to the aqueous phase, and, after addition of the total quantity had been completed, that temperature was maintained for a short period, with a reaction being brought about.

Following that, it was uniformly emulsified with an homogenizer and was cooled to 30°C while it was being thoroughly stirred.

[0032]**Example 2; Cream****(Formulation)**

Stearic acid	2.0 weight %
Stearyl alcohol	7.0
Hydrogenated lanolin	2.0
Squalane	5.0
2-octyl dodecyl alcohol	6.0
Polyoxyethylene (25 mol) cetyl alcohol ether	3.0
Glycerol monostearic acid ester	2.0
Propylene glycol	5.0
Pulowaras ethanol extract	0.05
Sodium hydrogensulfite	0.03
Ethylparaben	0.3
Fragrances	suitable quantity
Ion exchange water	remainder

(Preparation Method) Propylene glycol was added to ion exchange water, heated and maintained at 70°C (aqueous phase). The other constituents were mixed, heated and fused and maintained at 70°C (oleaginous phase). The oleaginous phase was added to the aqueous phase, preparatory emulsification and then uniform emulsification were performed with an homogenizer, after which the product was cooled to 30°C as it was being thoroughly stirred.

[0033]**Example 3; Cream****(Formulation)**

Solid paraffin	5.0 weight %
Beeswax	10.0
Vaseline	15.0
Liquid paraffin	41.0
Glycerol monostearic acid ester	2.0
Polyoxyethylene (20 mol) sorbitan monolauric acid ester	2.0
Soap powder	0.1
Borax	0.2
Pulowaras acetone extract	0.01
Sodium hydrogensulfite	0.03
Ethylparaben	0.3
Fragrances	suitable quantity
Ion exchange water	remainder

(Preparation Method) Soap powder and borax were added to the ion exchange water and they were heated, fused and maintained at 70°C (aqueous phase). The other constituents were mixed, heated and fused and maintained at 70°C (oleaginous phase). The oleaginous phase was added to the aqueous phase as the materials were being stirred and a reaction was performed. After the reaction was completed, the product was uniformly emulsified with an homogenizer. After emulsification, it was cooled to 30°C as it was being stirred.

[0034]

Example 4; Emulsion

(Formulation)

Stearic acid	2.5 weight %
Cetyl alcohol	1.5
Vaseline	5.0
Liquid paraffin	10.0
Polyoxyethylene (10 mol) monooleic acid ester	2.0
Polyethylene glycol 1500	3.0
Triethanolamine	1.0
Carboxyvinyl polymer	0.05
(brand name: Carbopol [phonetic], B.F. Goodrich Chemical Company)	
Pulowaras ethyl acetate ester extract	0.01
Sodium hydrogensulfite	0.01
Ethylparaben	0.3
Fragrances	suitable quantity
Ion exchange water	remainder

(Preparation Method) Carboxyvinyl polymer was dissolved in a small quantity of ion exchange water (Phase A). Polyethylene glycol 1500 and triethanolamine were added to the remaining ion exchange water and they were heated and fused and maintained at 70°C (aqueous phase). The other constituents were heated and fused and maintained at 70°C (oleaginous phase). The oleaginous phase was added to the aqueous phase and preliminary emulsification was performed. Phase A was added and uniform emulsification was performed with an homogenizer. After emulsification, the product was cooled to 30°C as it was being stirred.

[0035]

Example 5; Emulsion

(Formulation)

Microcrystalline wax	1.0 weight %
Beeswax	2.0
Lanolin	20.0
Liquid paraffin	10.0
Squalane	5.0
Sorbitan sesquioleic acid ester	4.0

Polyoxyethylene (20 mol) sorbitan monooleic acid ester	1.0
Propylene glycol	7.0
Pulowaras acetone extract	10.0
Sodium hydrogensulfite	0.01
Ethylparaben	0.3
Fragrances	suitable quantity
Ion exchange water	remainder

(Preparation Method) Propylene glycol was added to the ion exchange water, heated and maintained at 70°C (aqueous phase). The other constituents were mixed and heated and fused and maintained at 70°C (oleaginous phase). Water was gradually added as the oleaginous phase was being stirred and uniform emulsification was performed with an homogenizer. After emulsification, the product was cooled to 30°C as it was being stirred.

[0036]

Example 6; Jelly

(Formulation)

95% Ethyl alcohol	10.0 weight %
Dipropylene glycol	15.0
Polyoxyethylene (50 mol) oleyl alcohol ether	2.0
Carboxyvinyl polymer	1.0
(brand name: Carbopol 940, B.F. Goodrich Chemical Company)	
Sodium hydroxide	0.15
L-arginine	0.1
Pulowaras 50% ethanol aqueous solution extract	7.0
Sodium 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone sulfonate	0.05
Ethylenediamine tetraacetate trisodium 2-hydrate	0.05
Methylparaben	0.2
Fragrances	suitable quantity
Ion exchange water	remainder

(Preparation Method) Carbopol 940 was dissolved uniformly in ion exchange water. Separately, pulowaras 50% ethanol aqueous solution extract and polyoxyethylene (50 mol) oleyl alcohol ether were dissolved in 95% ethanol and the solution was added to the aqueous phase. Next, the other constituents were added, after which neutralization and thickening were effected in sodium hydroxide and L-arginine.

[0037]**Example 7; Beauty Solution****(Formulation)****(Phase A)**

Ethyl alcohol (95%)	10.0 weight %
Polyoxyethylene (20 mol) octyl dodecanol	1.0
Pantothenyl ethyl ether	0.1
Pulowaras methanol extract	1.5
Methylparaben	0.15

(Phase B)

Potassium hydroxide	0.1
---------------------	-----

(Phase C)

Glycerol	5.0
Dipropylene glycol	10.0
Sodium hydrogensulfite	0.03
Carboxyvinyl polymer	0.2
(brand name: Carbopol 940, B.F. Goodrich Chemical Company)	
Purified water	remainder

(Preparation Method) Phase A and phase C were dissolved uniformly and phase A was added to phase C and solubilized. Next, phase B was added, after which filling was performed.

[0038] Example 8; Pack**(Formulation)****(Phase A)**

Dipropylene glycol	5.0 weight %
Polyoxyethylene (60 mol) hardened castor oil	5.0

(Phase B)

Pulowaras methanol extract	0.01
Olive oil	5.0
Tocopherol acetate	0.2
Ethylparaben	0.2
Fragrances	0.2

(Phase C)

Sodium hydrogen sulfite	0.03
Polyvinyl alcohol	13.0
(degree of saponification, 90; degree of polymerization, 2,000)	
Ethanol	7.0
Purified water	remainder

(Preparation Method) Phase A, phase B and phase C were dissolved uniformly and phase B was added to phase A and solubilized. Next, this product was added to phase C, after which filling was performed.

[0039] Example 9; Solid foundation**(Formulation)**

Talc	43.1 weight %
Kaolin	15.0
Sericite	10.0
Zinc white	7.0
Titanium dioxide	3.8
Yellow iron oxide	2.9
Black iron oxide	0.2
Squalane	8.0
Isostearic acid	4.0
Monooleic acid POE sorbitan	3.0
Isocetyl octanoate	2.0
Pulowaras ethanol extract	1.0
Preservative	suitable quantity
Fragrances	suitable quantity

(Preparation Method) The powdered constituents from the talc to the black iron oxide were thoroughly mixed with a blender, the oleaginous constituents from squalane to isocetyl octanoate, the pulowaras ethanol extract, the preservative and the fragrances were added and thoroughly kneaded in, after which filling and molding were performed.

[0040]**Example 10; Emulsified foundation (cream type)****(Formulation)****(Powder components)**

Titanium dioxide	10.3 weight %
Sericite	5.4
Kaolin	3.0
Yellow iron oxide	0.8
Red iron oxide	0.3
Black iron oxide	0.2

(Oleaginous phase)

Decamethyl cyclopentasiloxane	11.5
Liquid paraffin	4.5
Polyoxyethylene modified dimethyl polysiloxane	4.0

(Aqueous phase)

Purified water	50.0
1,3-butylene glycol	4.5
Pulowaras ethanol extract	1.5
Sorbitan sesquioleic acid ester	3.0
Preservative	suitable quantity
Fragrances	suitable quantity

(Preparation Method) The aqueous phase was heated and stirred, after which the powdered constituents, which had been thoroughly nixed and pulverized, were added and the mixture was treated with an homogenizer. The oleaginous phase, which had been heated and mixed, was added and was treated with an homogenizer, after which the fragrances were added as the mixture was being stirred and was then cooled to room temperature.

[0041]

[Effect of the Invention] As has been described above, it is anticipated that the topical skin agent of this invention has a melanin production inhibiting action and a tyrosinase activity inhibiting action, that it has superior effects in color lightening and beautifying-whitening of pigment deposition after sunburn, blotches, freckles and melasma, that it has a superior protease inhibiting action and that it has superior effects in improvement of various skin diseases, rough skin and chapping.

[matter below line on page (9)]

Continued from front page

(51) Int.Cl. ⁶	Ident. Symbols	Internal Office Nos.	FI	Technology Indication
A61K 35/78	ADS AED		A61K 35/78	ADS AEDP
C12N 9/99			C12N 9/99	

(72) Inventor: Yoshihiro Yokogawa
c/o Shiseido Research Center
Shiseido Company, Ltd.
1050 Nippa-cho, Kohoku-ku,
Yokohama-shi, Kanagawa-ken

(72) Inventor: Kenshi Kitamura
c/o Shiseido Research Center
Shiseido Company, Ltd.
1050 Nippa-cho, Kohoku-ku,
Yokohama-shi, Kanagawa-ken

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-25212

(43) 公開日 平成9年(1997)1月28日

(51) Int.Cl. ⁴	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 7/00			A 6 1 K 7/00	K U X
	7/48		7/48	
	35/78	ADA	35/78	ADA

審査請求 未請求 請求項の数 5 FD (全 9 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平7-200468
(22) 出願日 平成7年(1995)7月13日

(71) 出願人 000001959
株式会社資生堂
東京都中央区銀座7丁目5番5号
(72) 発明者 吉田 雄三
神奈川県横浜市港北区新羽町1050番地 株
式会社資生堂第一リサーチセンター内
(72) 発明者 田中 直美
神奈川県横浜市港北区新羽町1050番地 株
式会社資生堂第一リサーチセンター内
(72) 発明者 八木 栄一郎
神奈川県横浜市港北区新羽町1050番地 株
式会社資生堂第一リサーチセンター内
(74) 代理人 弁理士 鎗野 千恵子
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 皮膚外用剤

(57) 【要約】

【目的】 日焼け後の色素沈着・しみ・そばかす・肝斑等の淡色化、美白に優れた効果を有すると共に、プロテアーゼ阻害作用にも優れ、種々の皮膚疾患、肌荒れ、荒れ性等の改善にも有効な皮膚外用剤を提供する。

【構成】 プロワラス (Pulowaras、学名: *Alycia reindwartii* Bl.) のようなキョウチクトウ (Apocynaceae) 科アリシア (*Alycia*) 属植物の抽出物を配合する皮膚外用剤。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 キョウチクトウ (Apocynaceae) 科アリシア (Alycia) 属植物の抽出物を配合することを特徴とする皮膚外用剤。

【請求項2】 キョウチクトウ (Apocynaceae) 科アリシア (Alycia) 属植物がプロワラス (Pulowaras、学名: Alycia reindwartii Bl.) である請求項1記載の皮膚外用剤。

【請求項3】 美白剤である請求項1または2記載の皮膚外用剤。

【請求項4】 プロテアーゼ阻害剤である請求項1または2記載の皮膚外用剤。

【請求項5】 キョウチクトウ (Apocynaceae) 科アリシア (Alycia) 属植物の抽出物の配合量が0.005~20.0重量%である請求項1~4のいずれかに記載の皮膚外用剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明はキョウチクトウ (Apocynaceae) 科アリシア (Alycia) 属植物の抽出物を配合した皮膚外用剤に関し、さらに詳しくは、メラニンの生成を抑制し、日焼け後の色素沈着・しみ・そばかす・肝斑等の予防および改善に有効であると共に、接触性皮膚炎、乾癬、尋常性天疱瘡、先天性水疱瘡、その他の肌荒れ、荒れ性等の皮膚疾患の改善、もしくは止血剤として利用可能なセリンプロテアーゼ阻害活性をも有する皮膚外用剤に関する。

【0002】

【従来の技術および発明が解決しようとする課題】皮膚のしみなどの発生機序については一部不明な点もあるが、一般には、ホルモンの異常や日光からの紫外線の刺激が原因となってメラニン色素が形成され、これが皮膚内に異常沈着するものと考えられている。皮膚の着色の原因となるこのメラニン色素は、表皮と真皮との間にあるメラニン細胞 (メラノサイト) 内のメラニン生成顆粒 (メラノソーム) において生産され、生成したメラニンは、浸透作用により隣接細胞へ拡散する。このメラノサイト内における生化学反応は、次のようなものと推定されている。すなわち、必須アミノ酸であるチロシンが酵素チロシナーゼの作用によりドーパキノンとなり、これが酵素的または非酵素的酸化作用により赤色色素および無色色素を経て黒色のメラニンへ変化する過程がメラニン色素の生成過程である。従って、反応の第1段階であるチロシナーゼの作用を抑制することが、メラニン生成の抑制に重要である。

【0003】しかしチロシナーゼ作用を抑制する化合物はヒドロキノンを除いてはその効果の発現がきわめて緩慢であるため、皮膚色素沈着の改善効果が十分でない。一方、ヒドロキロンは効果は一応認められているが、感作性があるため、一般には使用が制限されてい

る。そこでその安全性を向上させるため、高級脂肪酸のモノエステルやアルキルモノエーテルなどにする試み (特開昭58-154507号公報) がなされているが、エステル類は体内の加水分解酵素によって分解されるため必ずしも安全とは言えず、またエーテル類も安全性の面で十分に満足するものが得られていない。

【0004】一方、近年種々の皮膚疾患の病像形成にはプロテアーゼが関与していることが明らかにされつつある。例えば炎症性異常角化性疾患の代表である乾癬では、その患部表皮において高いプラスミノゲンアクチベーター (Plasminogen activator: PA) 活性が認められている。PAはセリンプロテアーゼの1つであるが、Hausteinは、乾癬表皮の特に錯角化部位に強いPA活性が存在することを報告し (Arch.Klin.Exp.Dermatol; 234,1969)、FrakiとHopsu-Havuは、乾癬鱗屑から高濃度の塩溶液を用いてPA活性を抽出した (Arch.Dermatol.Res; 256,1976)。また、尋常性天疱瘡においては表皮細胞内で多量に合成されたPAが、細胞外に存在するプラスミノゲン (Plasminogen) をプラスミン (Plasmin) に転換し、これが細胞間結合物質を消化することにより細胞間に組織液が貯留して表皮内水泡が形成されることが、インビトロ (in vitro) の実験系において明らかにされている (Morioka S. et al: J. Invest. Dermatol; 76,1981)。またプロテアーゼは、角質層形成など表皮の正常な角化過程においても重要な役割を果たしていると考えられており (Ogawa H., Yoshiike T.: Int. J. Dermatol; 23,1984)、肌改善あるいは皮膚疾患の治療薬として、プロテアーゼ阻害剤を用いる試みがなされるようになってきている。

【0005】

【課題を解決するための手段】そこで本発明者らは以上のような現況に鑑み、広く種々の物質についてメラニン生成抑制効果およびプロテアーゼ阻害活性を調べた結果、キョウチクトウ (Apocynaceae) 科アリシア (Alycia) 属植物の抽出物がメラニン生成抑制作用およびプロテアーゼ阻害作用を有していることを見出し、本発明を完成するに至った。キョウチクトウ (Apocynaceae) 科アリシア (Alycia) 属植物の抽出物のメラニン生成抑制作用等に関する報告はこれまでになく、美白剤やプロテアーゼ阻害剤への応用も全く知られていない。また、キョウチクトウ (Apocynaceae) 科アリシア (Alycia) 属植物の抽出物を皮膚外用剤に配合した例もない。本発明者らは上記知見に基づいて本発明を完成するに至った。

【0006】すなわち本発明は、キョウチクトウ (Apocynaceae) 科アリシア (Alycia) 属植物の抽出物を配合することを特徴とする皮膚外用剤である。

【0007】以下、本発明の構成について詳述する。本発明に用いられるキョウチクトウ (Apocynaceae) 科アリシア (Alycia) 属植物としては、例えば、プロワラス

(Pulowaras, 学名: *Alycia reindwartii* Bl.) が好適である。これは、特にインドネシアの乾性草原、牧草などに生える植物である。本発明に用いられる抽出物は、上記植物の葉、樹皮、地下茎を含む茎、果実等、植物全草を抽出溶媒と共に浸漬または加熱還流した後、濾過し、濃縮して得られる。本発明に用いられる抽出溶媒は、通常抽出に用いられる溶媒であれば何でもよく、特にメタノール、エタノール等のアルコール類、含水アルコール類、アセトン、酢酸エチルエステル等の有機溶媒を単独あるいは組み合わせ用いることができる。

【0008】本発明におけるキョウチクトウ (Apocynaceae) 科アリシア (*Alycia*) 属植物の抽出物の配合量は、外用剤全量中、乾燥物として0.005~20.0重量%、好ましくは0.01~10.0重量%である。0.005重量%未満であると、本発明でいう効果が十分に発揮されず、20.0重量%を超えると製剤化が難しいので好ましくない。また、10.0重量%以上配合してもさほど大きな効果の向上はみられない。

【0009】本発明の皮膚外用剤は、美白剤またはプロテアーゼ阻害剤としての応用が好適である。プロテアーゼ阻害剤のプロテアーゼとは、ペプチド結合の加水分解を触媒する酵素の総称であり、このプロテアーゼはペプチダーゼおよびプロテイナーゼに分類される。前者はペプチド鎖のアミノ基末端やカルボキシル基末端の外側より、ペプチド結合を切り離していく酵素で、後者はペプチド鎖内部の特定の結合を切断する酵素である。後者プロテイナーゼは、その活性触媒基の種類により、さらにセリン系、システイン系、アスパラギン酸系、金属系の4つに大別され、それぞれに特異的な阻害剤が存在している。本発明におけるプロテアーゼ阻害剤とは、このうちの特にセリンプロテアーゼに対して阻害活性を示すことを特徴としている。

【0010】本発明の皮膚外用剤には、上記必須成分以外に、通常化粧品や医薬品等の皮膚外用剤に用いられる成分、例えば、その他の美白剤、保湿剤、酸化防止剤、油性成分、紫外線吸収剤、界面活性剤、増粘剤、アルコール類、粉末成分、色材、水性成分、水、各種皮膚栄養剤等を必要に応じて適宜配合することができる。

【0011】その他、エデト酸二ナトリウム、エデト酸三ナトリウム、クエン酸ナトリウム、ポリリン酸ナトリウム、メタリン酸ナトリウム、グルコン酸等の金属封鎖剤、カフェイン、タンニン、ベラバミル、トラネキサム酸およびその誘導体、甘草抽出物、グラブリジン、火棘の果実の熱水抽出物、各種生薬、酢酸トコフェロール、グリチルリチン酸およびその誘導体またはその塩等の薬剤、ビタミンC、アスコルビン酸リン酸マグネシウム、アスコルビン酸グルコシド、アルブチン、コウジ酸等の他の美白剤、グルコース、フルクトース、マンノース、ショ糖、トレハロース等の糖類なども適宜配合すること

ができる。

【0012】本発明の皮膚外用剤とは、例えば軟膏、クリーム、乳液、ローション、パック、浴用剤等、従来皮膚外用剤に用いるものであればいずれでもよく、剤型は特に問わない。

【0013】

【実施例】次に実施例によって本発明をさらに詳細に説明する。尚、本発明はこれにより限定されるものではない。配合量は重量%である。実施例に先立ち、本発明の植物抽出物の①メラニン抑制効果、チロシナーゼ活性阻害効果および美白効果、ならびに②プロテアーゼ阻害効果に関する試験方法とその結果について説明する。

【0014】①メラニン抑制効果、チロシナーゼ活性阻害効果および美白効果に関する試験方法とその結果

1. 試料の調製

プロワラス (Pulowaras) の樹皮部分50gを、室温で1週間エタノールに浸漬し、抽出液を濃縮し、エタノール抽出物2.18gを得た。この抽出物をDMSOに1%溶かし、この溶液を希釈して濃度を調整し、これを用いて以下の実験を行った。

【0015】2. 細胞培養法

マウス由来のB16メラノーマ培養細胞を使用した。10%FBSおよびテオフィリン(0.09mg/ml)を含むイーグルMEM培地中でCO₂インキュベーター(95%空気, 5%二酸化炭素)内、37℃の条件下で培養した。培養24時間後に試料溶液を終濃度(抽出乾燥物換算濃度)で10⁻²~10⁻⁵重量%になるように添加し、さらに3日間培養を続け、以下の方法でメラニン生成量の視感判定およびチロシナーゼ活性阻害効果を測定した。

【0016】3. メラニン量の視感測定

ウエルのプレートの蓋の上に拡散板を置き、倒立顕微鏡で細胞内のメラニン量を観察し、植物の抽出物を添加していない試料(基準)の場合と比較した。その結果を表1に表示した。また、参考例として、すでにメラニン生成抑制作用のあることが知られているケイガイ(シソ科オドリコソウ亜科)抽出物についても上記と同様の試験を行った。その結果を併せて表1に示す。

【0017】<判定基準>

○: 白(メラニン量)

△: やや白(メラニン量)

×: 基準(メラニン量)

【0018】4. チロシナーゼ活性の測定

測定前にウエル中の培地は除去し、PBS100μlで2回洗う。各ウエルに45μlの1%トライトン-X(ローム・アンド・ハース社製商品名、界面活性剤)を含むPBSを加える。1分間プレートを振動させ、よく細胞膜を破壊し、マイクロプレートリーダーで475nmの吸光度を測定してこれを0分時の吸光度とした。その後、すばやく5μlの10mMのL-DOPA溶液を

加えて、37℃のインキュベーターに移し、60分間反応させた。1分間プレートを振動させ、60分時の吸光度(475nm)を測定した。植物抽出物を添加していない試料(コントロール)の場合の0分時と60分時の吸光度差に対する植物抽出物添加試料の前記吸光度差の割合をチロシナーゼ活性率(%)とした。その結果を表1に示す。また、参考例として、すでにチロシナーゼ活

性阻害作用のあることが知られているケイガイのエタノール抽出物についても上記と同様の試験を行った。その結果を併せて表1に示す。なお、表中、-は、コントロールに比べて、危険率5%以内で有意な差が認められなかったことを意味する。

【0019】

【表1】

試験	メラニン生成視感評価				チロシナーゼ活性率(%)			
	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	10 ⁻³	10 ⁻²	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	10 ⁻³	10 ⁻²
プロワラス抽出物	×	×	×	○	-	75	75	70
ケイガイ抽出物	×	×	×	×	-	-	-	55

【0020】5. 美白効果試験

〔試験方法〕夏期の太陽光に4時間(1日2時間で2日間)晒された被験者40名の上腕内側部皮膚を対象とし

て太陽光に晒された日の5日後より各試料を朝夕1回ずつ4週間塗布した。パネルを一群8名に分けて、5群とし下記に示す処方にて試験を行った。

(アルコール相)

- 95%エチルアルコール 55.0 重量%
- ポリオキシエチレン(25モル)硬化ヒマシ油エーテル 2.0
- 酸化防止剤・防腐剤 適量
- 香料 適量
- 薬剤(表2記載)

(水相)

- グリセリン 5.0
- ヘキサメタリン酸ナトリウム 適量
- イオン交換水 残余

<製法>水相、アルコール相をそれぞれ調製し、その後両者を混合して可溶化する。

【0021】〔評価方法〕使用後の淡色化効果を下記の判定基準に基づいて判定した。

<判定基準>

- ◎: 被験者のうち著効および有効の示す割合が80%以上の場合
- : 被験者のうち著効および有効の示す割合が50%~80%未満の場合

△: 被験者のうち著効および有効の示す割合が30%~50%未満の場合

×: 被験者のうち著効および有効の示す割合が30%未満の場合

【0022】上記試験法記載の配合組成からなる試料を調製し、表2記載の薬剤を用いて美白効果を比較した。結果は表2に示す。

【0023】

【表2】

薬剤	配合量(重量%)	効果
無添加	-	×
ハイドロキノン	1.0	△
プロワラス抽出物	0.1	○
プロワラス抽出物	1.0	○
プロワラス抽出物	10.0	◎

【0024】なお、表2のプロワラス抽出物は、植物の樹皮をエタノール中で加熱還元した後、ろ過、濃縮乾燥して得たものである。

【0025】表2より明らかな様に、太陽光に晒された

後の効果はプロワラス抽出物を添加した方が過剰のメラニン色素の沈着を防ぎ、色黒になることを予防することが認められた。

【0026】②プロテアーゼ阻害効果に関する試験方法

とその結果

代表的な2種類のセリンプロテアーゼとして、プラスミンとトリプシンに対する阻害活性を評価した。

【0027】1. 試料の調製

プロワラス (Pulowaras) の樹皮部分を室温で1週間エタノールに浸漬し、抽出液を濃縮乾固した。この固形物を再びエタノールに溶解し、1%溶液を作成した。

【0028】2. プラスミン阻害活性の測定

フィブリン平板法にて阻害率%を求めた。すなわち Astrupら (Arch.Biochem.; 40, 346, 1952) の方法にならないフィブリン平板を作成し、上記のように調製した試料を0.1%と0.01%にまでエタノールにて希釈して使用した。結果を表3に示した。

【0029】3. トリプシン阻害活性の測定

カゼインを基質とした Muramatuら (J.Biochem.; 58, 214, 1965) の方法にならない阻害率を求めた。試料は同じく0.1%と0.01%にまで希釈したものを使用し、結果を表3に示した。また、参考例として、すでに肌荒れに対する適用が知られている植物であるショウガ (Zingiberaceae) 科のクニット (Kunyit、学名: Curcuma domestica)、ショウガ (Zingiberaceae) 科のレムアヤン (Lempuyang、学名: Zingiber aromaticum Mal.) およびヨモギのエタノール抽出物についても上記と同様の試験を行った。その結果を併せて表3に示す。

【0030】

【表3】

試料添加濃度	阻害率 (%)	
	プラスミン	トリプシン
プロワラス	0.1%	33.1
	0.01%	27.5
クニット	0.1%	3.0
	0.01%	0
レムアヤン	0.1%	0
	0.01%	0
ヨモギ	0.1%	18.6
	0.01%	5.8

【0031】実施例1 クリーム (処方)

ステアリン酸	5.0	重量%
ステアリルアルコール	4.0	
イソプロピルミリステート	18.0	
グリセリンモノステアリン酸エステル	3.0	
プロピレングリコール	10.0	
プロワラスメタノール抽出物	0.01	
苛性カリ	0.2	
亜硫酸水素ナトリウム	0.01	
防腐剤		適量

香料

イオン交換水

適量

残余

(製法) イオン交換水にプロピレングリコールとプロワラスメタノール抽出物と苛性カリを加え溶解し、加熱して70℃に保つ(水相)。他の成分を混合し加熱融解して70℃に保つ(油相)。水相に油相を徐々に加え、全部加え終わってからしばらくその温度に保ち反応を起こさせる。その後、ホモミキサーで均一に乳化し、よくかきまぜながら30℃まで冷却する。

【0032】

実施例2 クリーム

(処方)

ステアリン酸	2.0	重量%
ステアリルアルコール	7.0	
水添ラノリン	2.0	
スクワラン	5.0	
2-オクチルドデシルアルコール	6.0	
ポリオキシエチレン(25モル)セチルアルコールエーテル	3.0	
グリセリンモノステアリン酸エステル	2.0	
プロピレングリコール	5.0	
プロワラスエタノール抽出物	0.05	

亜硫酸水素ナトリウム	0.03
エチルバラベン	0.3
香料	適量
イオン交換水	残余

(製法) イオン交換水にアロピレングリコールを加え、加熱して70℃に保つ(水相)。他の成分を混合し加熱融解して70℃に保つ(油相)。水相に油相を加え予備

乳化を行い、ホモミキサーで均一に乳化した後、よくかきまぜながら30℃まで冷却する。

【0033】

実施例3 クリーム

(処方)

固形パラフィン	5.0	重量%
ミツロウ	10.0	
ワセリン	15.0	
流動パラフィン	41.0	
グリセリンモノステアリン酸エステル	2.0	
ポリオキシエチレン(20モル)ソルビタンモノラウリン酸エステル	2.0	
石けん粉末	0.1	
硼砂	0.2	
プロワラスアセトン抽出物	0.1	
亜硫酸水素ナトリウム	0.03	
エチルバラベン	0.3	
香料	適量	
イオン交換水	残余	

(製法) イオン交換水に石けん粉末と硼砂を加え、加熱溶解して70℃に保つ(水相)。他の成分を混合し加熱融解して70℃に保つ(油相)。水相に油相をかきまぜながら徐々に加え反応を行う。反応終了後、ホモミキサ

ーで均一に乳化し、乳化後よくかきまぜながら30℃まで冷却する。

【0034】

実施例4 乳液

(処方)

ステアリン酸	2.5	重量%
セチルアルコール	1.5	
ワセリン	5.0	
流動パラフィン	10.0	
ポリオキシエチレン(10モル)モノオレイン酸エステル	2.0	
ポリエチレングリコール1500	3.0	
トリエタノールアミン	1.0	
カルボキシビニルポリマー	0.05	
(商品名: カーボボール941, B.F. Goodrich Chemical company)		
プロワラス酢酸エチルエステル抽出物	0.01	
亜硫酸水素ナトリウム	0.01	
エチルバラベン	0.3	
香料	適量	
イオン交換水	残余	

(製法) 少量のイオン交換水にカルボキシビニルポリマーを溶解する(A相)。残りのイオン交換水にポリエチレングリコール1500とトリエタノールアミンを加え、加熱溶解して70℃に保つ(水相)。他の成分を混

合し加熱融解して70℃に保つ(油相)。水相に油相を加え予備乳化を行い、A相を加えホモミキサーで均一乳化し、乳化後よくかきまぜながら30℃まで冷却する。

【0035】

実施例5 乳液

(処方)

マイクロクリスタリンワックス	1.0	重量%
密ロウ	2.0	

ラノリン	20.0
流動パラフィン	10.0
スクワラン	5.0
ソルビタンセスキオレイン酸エステル	4.0
ポリオキシエチレン(20モル)ソルビタンモノオレイン酸エステル	1.0
プロピレングリコール	7.0
プロワラスアセトン抽出物	10.0
亜硫酸水素ナトリウム	0.01
エチルパラベン	0.3
香料	適量
イオン交換水	残余

(製法) イオン交換水にプロピレングリコールを加え、加熱して70℃に保つ(水相)。他の成分を混合し、加熱融解して70℃に保つ(油相)。油相をかきまぜながら

らこれに水相を徐々に加え、ホモミキサーで均一に乳化する。乳化後よくかきまぜながら30℃まで冷却する。
【0036】

実施例6 ゼリー

(処方)

95%エチルアルコール	10.0	重量%
ジプロピレングリコール	15.0	
ポリオキシエチレン(50モル)オレイルアルコールエーテル	2.0	
カルボキシビニルポリマー	1.0	
(商品名: カーボボール940, B.F. Goodrich Chemical company)		
苛性ソーダ	0.15	
L-アルギニン	0.1	
プロワラス50%エタノール水溶液抽出物	7.0	
2-ヒドロキシ-4-メトキシベンゾフェノンスルホン酸ナトリウム	0.05	
エチレンジアミンテトラアセテート・3ナトリウム・2水	0.05	
メチルパラベン	0.2	
香料	適量	
イオン交換水	残余	

(製法) イオン交換水にカーボボール940を均一に溶解し、一方、95%エタノールにプロワラス50%エタノール水溶液抽出物、ポリオキシエチレン(50モル)オレイルアルコールエーテルを溶解し、水相に添加す

る。次いで、その他の成分を加えたのち苛性ソーダ、L-アルギニンで中和させ増粘する。
【0037】

実施例7 美容液

(処方)

(A相)

エチルアルコール(95%)	10.0	重量%
ポリオキシエチレン(20モル)オクチルドデカノール	1.0	
パントテニールエチルエーテル	0.1	
プロワラスメタノール抽出物	1.5	
メチルパラベン	0.15	

(B相)

水酸化カリウム	0.1
---------	-----

(C相)

グリセリン	5.0
ジプロピレングリコール	10.0
亜硫酸水素ナトリウム	0.03
カルボキシビニルポリマー	0.2
(商品名: カーボボール940, B.F. Goodrich Chemical company)	
精製水	残余

(製法) A相、C相をそれぞれ均一に溶解し、C相にA相を加えて可溶化する。次いでB相を加えたのち充填を行う。

【0038】実施例8 バック

(処方)

(A相)

ジプロピレングリコール 5.0 重量%
ポリオキシエチレン(60モル)硬化ヒマシ油 5.0

(B相)

プロワラスメタノール抽出物 0.01
オリーブ油 5.0
酢酸トコフェロール 0.2
エチルバラベン 0.2
香料 0.2

(C相)

亜硫酸水素ナトリウム 0.03
ポリビニルアルコール 13.0
(ケン化度90、重合度2,000)
エタノール 7.0

精製水 残余

(製法) A相、B相、C相をそれぞれ均一に溶解し、A相にB相を加えて可溶化する。次いでこれをC相に加え

たのち充填を行う。

【0039】実施例9 固形ファンデーション

(処方)

タルク	43.1	重量%
カオリン	15.0	
セリサイト	10.0	
亜鉛華	7.0	
二酸化チタン	3.8	
黄色酸化鉄	2.9	
黒色酸化鉄	0.2	
スクワラン	8.0	
イソステアリン酸	4.0	
モノオレイン酸POEソルビタン	3.0	
オクタン酸イソセチル	2.0	
プロワラスエタノール抽出物	1.0	
防腐剤	適量	
香料	適量	

(製法) タルク～黒色酸化鉄の粉末成分をブレンダーで十分混合し、これにスクワラン～オクタン酸イソセチルの油性成分、プロワラスエタノール抽出物、防腐剤、香料を加え良く混練した後、容器に充填、成型する。

【0040】

実施例10 乳化型ファンデーション(クリームタイプ)

(処方)

(粉体部)

二酸化チタン	10.3	重量%
セリサイト	5.4	
カオリン	3.0	
黄色酸化鉄	0.8	
ベンガラ	0.3	
黒色酸化鉄	0.2	

(油相)

デカメチルシクロペンタシロキサン	11.5
流動パラフィン	4.5
ポリオキシエチレン変性ジメチルポリシロキサン	4.0

(水相)

精製水	50.0
1,3-ブチレングリコール	4.5
プロワラスエタノール抽出物	1.5
ソルビタンセスキオレイン酸エステル	3.0
防腐剤	適量
香料	適量

(製法) 水相を加熱攪拌後、十分に混合粉碎した粉体部を添加してホモキサー処理する。更に加熱混合した油相を加えてホモキサー処理した後、攪拌しながら香料を添加して室温まで冷却する。

【0041】

【発明の効果】 以上説明したように、本発明の皮膚外用

剤は、メラニン生成抑制作用およびチロシナーゼ活性阻害作用を有しており、日焼け後の色素沈着・しみ・そばかす・肝斑等の淡色化、美白に優れた効果を有すると共に、プロテアーゼ阻害作用にも優れ、種々の皮膚疾患、肌荒れ、荒れ性等の改善に優れた効果を有することが期待される。

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 35/78	ADS AED		A 6 1 K 35/78	ADS AEDP
C 1 2 N 9/99			C 1 2 N 9/99	

(72)発明者 横川 佳浩
神奈川県横浜市港北区新羽町1050番地 株
式会社資生堂第一リサーチセンター内

(72)発明者 北村 謙始
神奈川県横浜市港北区新羽町1050番地 株
式会社資生堂第一リサーチセンター内